

04 JAN 2005

07/520158

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

RECEIVED

11 NOV 2004

PCT

| | | |
|--|--|--|
| Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 1034 WO | WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/PEAA16) | |
| Internationales Aktenzeichen PCT/DE 03/02245 | Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 04.07.2003 | Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 04.07.2002 |
| Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C07K14/00 | | |
| Anmelder MICRONAS HOLDING GMBH et al. | | |

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 6 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.

☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).



Diese Anlagen umfassen insgesamt 5 Blätter.

EPO - DG 1

17. 12. 2004

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Bescheids
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Regel 66.2 a)ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

| | |
|--|---|
| Datum der Einreichung des Antrags 03.02.2004 | Datum der Fertigstellung dieses Berichts 10.11.2004 |
| Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde  Europäisches Patentamt - P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas Tel. +31 70 340 - 2040 Tlx 31 651 epo nl Fax: +31 70 340 - 3016 | Bevollmächtigter Bediensteter Schmidt, Harald Tel. +31 70 340-4023  |

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/DE 03/02245

I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der Bestandteile der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):

Beschreibung, Seiten

1-12 in der ursprünglich eingereichten Fassung

Sequenzen, Seiten

1-3 in der ursprünglich eingereichten Fassung

Ansprüche, Nr.

1-19 eingegangen am 18.10.2004 mit Telefax

2. Hinsichtlich der Sprache: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um:

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☒ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☒ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☒ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☐ Ansprüche, Nr.:
- ☐ Zeichnungen, Blatt:

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/DE 03/02245

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen.)

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

- | | |
|--------------------------------|--|
| 1. Feststellung | |
| Neuheit (N) | Ja: Ansprüche 1-9,11 Nein: Ansprüche 10,12-19 |
| Erfinderische Tätigkeit (IS) | Ja: Ansprüche 1-9,11 Nein: Ansprüche 10,12-19 |
| Gewerbliche Anwendbarkeit (IA) | Ja: Ansprüche 1-19 Nein: Ansprüche: |

2. Unterlagen und Erklärungen:

siehe Beiblatt

Zu Punkt V

Begründete Feststellung hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

- D1: Browne J et al. (2002) Nature 416:38
- D2: Sales K et al. (2000) BBA 1463:267-278
- D3: Wolkers WF et al. (2001) BBA 1544:196-206
- D4: US 5624831

Neuheit

Das Dokument D1 offenbart, dass anhydrobiotische Organismen eine Zusammensetzung aus nicht-reduzierenden Zuckern wie Trehalose oder Saccharose und LEA-Proteinen enthalten; es wird auch erwähnt, dass solche Zuckergläser durch LEA-3-Proteine, die ein aus 11 Aminosäuren bestehendes Motiv (siehe beispielsweise SEQ ID NOs 2 bis 4 der vorliegenden Anmeldung) enthalten, stabilisiert werden und somit die Schädigung von Biomolekülen beim Austrocknen verhindern. Eine solche Zusammensetzung ist neuheitsschädlich für den Gegenstand der unabhängigen Ansprüche 10 und 18, da der Organismus als Oberfläche oder Vorrichtung angesehen wird und sich die Oberfläche bzw. die Vorrichtung der genannten Ansprüche nur über die schon in D1 beschriebene Zusammensetzung definieren.

Das Dokument D2 offenbart ein Verfahren, bei dem das Biomolekül Phospholipid, das Trehalose einschließt mit dem LEA-ähnlichen Protein HSP12 inkubiert wird, wobei das Liposom vor dem Austrocknen geschützt wird (siehe Seite 274, linke Spalte). Es wird zudem erwähnt, dass die Liposome auch Stearylamine und Calcein enthalten (siehe Seite 273, rechte Spalte).

...Eine solche Zusammensetzung ist neuheitsschädlich für den Gegenstand der unabhängigen Ansprüche 10 und 18, da der Organismus als Oberfläche oder Vorrichtung angesehen wird und sich die Oberfläche bzw. die Vorrichtung der genannten Ansprüche nur über die schon in D2 beschriebene Zusammensetzung definieren.

Das Dokument D3 offenbart Zusammensetzungen aus dem D-7 LEA-Protein und Saccharose, die die biologische Aktivität von Pollen als Biomolekülen schützen (siehe Seite 205, linke Spalte). Ferner werden trockene Filme dieser Zusammensetzung auf Oberflächen aufgetragen, um sie zu analysieren. Eine solche Zusammensetzung ist neuheitsschädlich für den Gegenstand der unabhängigen Ansprüche 10 und 18, da sich die Oberfläche bzw. die Vorrichtung der besagten Ansprüche nur über die schon in D3 beschriebene Zusammensetzung definieren.

Daher kann der Gegenstand der Ansprüche 10 und 18 nicht als neu im Sinne des Artikels 33(2) PCT angesehen werden.

Die abhängigen Ansprüche 12 bis 17 und 19 enthalten keine Merkmale, die in Kombination mit den Merkmalen irgendeines Anspruchs, auf den sie sich beziehen, die Erfordernisse des PCT in Bezug auf Neuheit bzw. erfinderische Tätigkeit erfüllen, sofern sie auf den Anspruch 10 bezogen sind.

Der Gegenstand der Ansprüche 1 bis 9 und 11 ist neu im Sinne des Artikels 33(2) PCT.

Erfinderische Tätigkeit

Das Dokument D4 wird als nächster Stand der Technik für den Gegenstand der Ansprüche 1 bis 9 und 11 angesehen und offenbart eine feste Oberfläche, auf die ein Protein immobilisiert ist und das mit einem Film aus Gelatine und/oder Albumin sowie Trehalose vor äußeren Einflüssen wie trockene Hitze oder Proteasen geschützt ist. Der Gegenstand der Ansprüche 1 bis 9 und 11 unterscheidet sich dadurch, dass der Schutzfilm zusätzlich ein LEA-Protein enthält.

Das zu lösende Problem besteht darin, eine verbesserte konservierte proteinbeladene Oberfläche zur Verfügung zu stellen, die eine langfristige Lagerungsstabilität über einen weiten Temperaturbereich aufweist.

Die Lösung kann darin gesehen werden, zusätzlich ein LEA-Protein zur Konservierung der auf der Oberfläche immobilisierten Biomoleküle einzusetzen.

Obwohl beispielsweise im Dokument D1 beschrieben wird, dass LEA-Proteine einen synergistischen Effekt auf Zuckergläser ausüben und so biologisches Material vor der Austrocknung schützen und der Wortlaut der unabhängigen Ansprüche 1, 9 und 11 nicht die Verwendung zusätzlicher Substanzen wie beispielsweise Gelatine oder Albumin im Bioglas ausschließt, würde es der Fachmann als nicht offensichtlich erachten, dass gerade der Zusatz von LEA-Proteinen das gestellte Problem lösen

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT - BEIBLATT**

Internationales Aktenzeichen PCT/DE 03/02245

kann, zumal D1 nicht die Verwendung künstlicher Oberflächen vorschlägt.
Daher wird der Gegenstand der Ansprüche 1 bis 9 und 11 als erfinderisch im Sinne des Artikels 33(3) PCT angesehen.

Gewerbliche Anwendbarkeit

Dem Gegenstand der Ansprüche 1 bis 19 wird eine gewerbliche Anwendbarkeit im Sinne des Artikels 33(4) PCT zuerkannt.

EPO-DG 1

22. 10. 2004

1

Patentansprüche

118

1. Verfahren zur Stabilisierung bzw. Konservierung von Biomolekülen, bei dem die Biomoleküle auf Oberflächen immobilisiert sind und mit einer Zusammensetzung beaufschlagt werden, die mindestens ein nicht-reduzierendes Disaccharid und mindestens ein Protein oder Polypeptid der LEA-Klasse umfasst.
2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das nicht-reduzierende Disaccharid ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus Trehalose (D-Glucopyranosyl-D-glucopyranose), Sucrose (β -D-Fructofuranosyl- α -D-glycopyranosid), sowie Derivaten davon.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, wobei das nicht-reduzierende Disaccharid Trehalose ist.
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei das mindestens eine Protein oder Polypeptid der LEA-Klasse ein 11 Aminosäuren umfassendes Motiv aufweist, welches durch die folgende allgemeine Formel (SEQ ID NO. 1) charakterisiert ist:
- (1)-(2)-(3)-(4)-(5)-(6)-(7)-(8)-(9)-(10)-E,
wobei (1) K oder T,
(2) A, G, K, M oder T,
(3) R, D, A, E, Q oder K,
(4) E, K oder S,
(5) T, F, Y oder A,
(6) K, R, T oder A,
(7) D, E oder Q,
(8) S, R, Y oder K,
(9) A oder T, und
(10) G, A oder R,
bedeuten.

GEÄNDERTES BLATT

EPO-DG 1

22. 10. 2004

1

Patentansprüche

118

1. Verfahren zur Stabilisierung bzw. Konservierung von Biomolekülen, bei dem die Biomoleküle auf Oberflächen immobilisiert sind und mit einer Zusammensetzung beaufschlagt werden, die mindestens ein nicht-reduzierendes Disaccharid und mindestens ein Protein oder Polypeptid der LEA-Klasse umfasst.
2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das nicht-reduzierende Disaccharid ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus Trehalose (D-Glucopyranosyl-D-glucopyranose), Sucrose (β -D-Fructofuranosyl- α -D-glycopyranosid), sowie Derivaten davon.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, wobei das nicht-reduzierende Disaccharid Trehalose ist.
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei das mindestens eine Protein oder Polypeptid der LEA-Klasse ein 11 Aminosäuren umfassendes Motiv aufweist, welches durch die folgende allgemeine Formel (SEQ ID NO. 1) charakterisiert ist:
- (1)-(2)-(3)-(4)-(5)-(6)-(7)-(8)-(9)-(10)-E,
wobei (1) K oder T,
(2) A, G, K, M oder T,
(3) R, D, A, E, Q oder K,
(4) E, K oder S,
(5) T, F, Y oder A,
(6) K, R, T oder A,
(7) D, E oder Q,
(8) S, R, Y oder K,
(9) A oder T, und
(10) G, A oder R,
bedeuten.

GEÄNDERTES BLATT

5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Zusammensetzung mindestens ein Protein oder Polypeptid der LEA-Unterklasse 3 mit einer Aminosäuresequenz umfasst, die von einer Nukleotidsequenz kodiert wird, wie sie in der GenBank unter der Zugriffsnummer AF423069 oder S39475 hinterlegt ist.
6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das mindestens eine Protein oder Polypeptid der LEA-Unterklasse 3 ein 11 Aminosäuren umfassendes Motiv aufweist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:
- (a) K-T-A-E-F-R-D-S-A-G-E (SEQ ID NO. 2),
 - (b) K-G-Q-E-F-K-E-R-A-G-E (SEQ ID NO. 3),
 - (c) K-A-E-E-T-K-Q-R-A-G-E (SEQ ID NO. 4),
 - (d) K-M-D-E-T-K-Q-R-A-G-E (SEQ ID NO. 5),
 - (e) K-A-R-K-T-K-D-S-A-A-E (SEQ ID NO. 6),
 - (f) K-A-K-E-Y-K-D-Y-T-A-E (SEQ ID NO. 7),
 - (g) K-A-R-E-T-T-E-K-A-R-E (SEQ ID NO. 8), und
 - (h) T-K-D-S-A-A-E-K-A-R-E (SEQ ID NO. 9).
7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Zusammensetzung die Komponenten des nicht-reduzierenden Disaccharids und des Proteins oder Polypeptids der LEA-Klasse in jeweiligen Mengen von 0,01 bis 15 beziehungsweise 0,00001 bis 1 Gewichtsprozent, jeweils bezogen auf eine gebrauchsfertige Lösung, umfasst.
8. Verfahren zur Herstellung einer Oberfläche mit immobilisierten und stabilisierten bzw. konservierten Biomolekülen, bei dem die Biomoleküle mit einer Zusammensetzung beaufschlagt werden, die mindestens ein nicht-reduzierendes Disaccharid und mindestens ein Protein oder Polypeptid der LEA-Klasse umfasst.

9. Oberfläche mit immobilisierten und stabilisierten bzw. konservierten Biomolekülen, erhalten durch das Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 8.
- 5 10. Oberfläche mit immobilisierten und stabilisierten bzw. konservierten Biomolekülen als Bestandteil einer analytischen und/oder diagnostischen Vorrichtung, beaufschlagt mit einer Zusammensetzung, die mindestens ein nicht-reduzierendes Disaccharid und mindestens ein Protein oder Polypeptid der LEA-Klasse umfasst.
- 10
11. Oberfläche aus einem Material, das aus Glas, Quarzglas, Quarz, Silizium, Polymeren, Nitrozellulose-, Nylon- und Mikrofasermembranen sowie Papier ausgewählt ist, mit immobilisierten und stabilisierten bzw. konservierten Biomolekülen, beaufschlagt mit einer Zusammensetzung, die mindestens ein nicht-reduzierendes Disaccharid und mindestens ein Protein oder Polypeptid der LEA-Klasse umfasst.
- 15
12. Oberfläche nach Anspruch 10 oder 11, wobei die Zusammensetzung die Komponenten des nicht-reduzierenden Disaccharids und des Proteins oder Polypeptids der LEA-Klasse in jeweiligen Mengen von 0,01 bis 15 beziehungsweise 0,00001 bis 1 Gewichtsprozent, jeweils bezogen auf eine gebrauchsfertige Lösung, umfasst.
- 20
13. Oberfläche nach einem der Ansprüche 10 bis 12, wobei das nicht-reduzierende Disaccharid ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Trehalose (D-Glucopyranosyl-D-glucopyranose), Sucrose (β -D-Fructofuranosyl- α -D-glycopyranosid), sowie Derivaten davon.
- 30

14. Oberfläche nach Anspruch 13, wobei das nicht-reduzierende Disaccharid Trehalose ist.
15. Oberfläche nach einem der Ansprüche 10 bis 14, wobei das
5 mindestens eine Protein oder Polypeptid der LEA-Klasse ein
11 Aminosäuren umfassendes Motiv aufweist, welches durch
die folgende allgemeine Formel (SEQ ID NO. 1)
charakterisiert ist:
(1)-(2)-(3)-(4)-(5)-(6)-(7)-(8)-(9)-(10)-E,
10 wobei (1) K oder T,
(2) A, G, K, M oder T,
(3) R, D, A, E, Q oder K,
(4) E, K oder S,
(5) T, F, Y oder A,
15 (6) K, R, T oder A,
(7) D, E oder Q,
(8) S, R, Y oder K,
(9) A oder T, und
(10) G, A oder R,
20 bedeuten.
16. Oberfläche nach einem der Ansprüche 10 bis 15, wobei die
Zusammensetzung mindestens ein Protein oder Polypeptid der
LEA-Unterklasse 3 mit einer Aminosäuresequenz umfasst, die
25 von einer Nukleotidsequenz kodiert wird, wie sie in der
GenBank unter der Zugriffsnummer AF423069 oder S39475
hinterlegt ist.
17. Oberfläche nach einem der Ansprüche 10 bis 16, wobei das
30 mindestens eine Protein oder Polypeptid der LEA-Unterklasse
3 ein 11 Aminosäuren umfassendes Motiv aufweist, ausgewählt
aus der Gruppe bestehend aus:

- 5
- (a) K-T-A-E-F-R-D-S-A-G-E (SEQ ID NO. 2),
 - (c) K-G-Q-E-F-K-E-R-A-G-E (SEQ ID NO. 3),
 - (c) K-A-E-E-T-K-Q-R-A-G-E (SEQ ID NO. 4),
 - (d) K-M-D-E-T-K-Q-R-A-G-E (SEQ ID NO. 5),
 - (e) K-A-R-K-T-K-D-S-A-A-E (SEQ ID NO. 6),
 - (f) K-A-K-E-Y-K-D-Y-T-A-E (SEQ ID NO. 7),
 - (g) K-A-R-E-T-T-E-K-A-R-E (SEQ ID NO. 8), und
 - (h) T-K-D-S-A-A-E-K-A-R-E (SEQ ID NO. 9).

10

18. Analytische und/oder diagnostische Vorrichtung, umfassend eine Oberfläche nach einem der Ansprüche 9 bis 17.

15 19. Vorrichtung nach Anspruch 18, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Biochips, Sensorchips, Mikrotiterplatten, Reaktionsröhrchen und Kulturschalen.

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.